

УДК 612.79+612.603

Т. Г. ОВАНЕСБЕКОВА

ГИСТОЭНЗИМАТИЧЕСКИЙ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ВОЛОКНИСТЫХ СТРУКТУР КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

В соединительной ткани кожи с возрастом существенно изменяются физические, физико-химические и биохимические особенности волокнистых структур. Решающее значение в их развитии принадлежит изменениям молекулярной организации соединительнотканых белков [2].

Одним из показателей, характеризующих изменения внутренней структуры белков в онтогенезе, является их отношение к деполимеризующим и денатурирующим агентам. В этом плане структурная стабильность белков приобретает важное значение. На морфологическом уровне исследования представляется возможным судить о структурной стабильности соединительнотканых белков на основании характера и степени изменения последних под действием ферментов, широко участвующих в обменных процессах организма.

Вот почему «проблема ферментативной природы деполимеризации и гидролиза отдельных компонентов соединительной ткани приобретает, наряду с изучением процесса биосинтеза этих веществ, первостепенное значение» [1].

Исходя из вышеизложенного, мы поставили перед собой задачу исследовать чувствительность волокнистых структур кожи к протеолитическим ферментам в различные возрастные периоды.

Материалом нашего исследования является кожа, взятая с передней поверхности верхней трети бедра практически здоровых людей, погибших в результате несчастных случаев. Кусочки кожи фиксировали в ацетоне, растворе Карнуа и заливали в парафин. Срезы инкубировали в растворах пепсина, трипсина, коллагеназы, эластазы, гиалуронидазы и окрашивали гематоксилин-эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону, на эластик по Вейгерту, импрегнацией по Гомори, толуидиновым синим и ШИК-реакцией. Одновременно с препаратом, обработанным ферментом, окрашивался контрольный, инкубированный в соответствующем для каждого фермента растворе в те же сроки. Всего исследован 81 случай. Материал распределен по следующим возрастным группам: 1—(от 0 до 9 лет)—14 случаев, 2—(10—18)—11, 3—(19—30)—16, 4—(31—50 лет)—18, 5—(51—60)—8, 6—(свыше 60 лет)—14, из коих в возрасте до 74 лет—7 случаев.

Изменения коллагеновых волокон дермы раньше и отчетливее проявляются в ее верхних отделах, где к 30 г. отмечается их уплотнение. В сетчатом отделе дермы появляются грубые, толстые пучки со сглаженной фибриллярностью. Наряду с гомогенизацией одних пучков происходит разволокнение и истончение других. После 25 лет отмечается ослабление фуксинофилии коллагеновых волокон при реакции ШИК, по сравнению с окрашиванием их в коже детей и подростков. В верхней трети дермы определяются метакроматически окрашенные волокна, метакромазия которых ослабляется после инкубации в гиалуронидазе. С возрастом в верхних отделах дермы появляются поля разрежения (по[7]), где коллагеновые волокна располагаются с меньшей плотностью вследствие нарастающих деструктивных процессов; в таких участках при импрегнации по Гомори видны истонченные, беспорядочно расположенные волокна, окрашенные в черный цвет. Среди бледно-розовых волокон появляются интенсивно фуксинофильные при реакции ШИК гиалинизированные пучки. В пожилом и старческом возрасте эти явления нарастают: расширяются зоны разрежения, появляются небольшие очаги деколлагенизации, в которых определяются тоненькие волоконца, зерна, глыбки, обрывки коллагена. Увеличивается число метакроматически окрашенных толуидиновым синим и интенсивно фуксинофильных при реакции ШИК коллагеновых волокон. ШИК-положительно окрашиваются и глыбки распавшегося коллагена. В старости отмечается ослабление фуксинофилии коллагеновых волокон и их неравномерное окрашивание при реакции ШИК.

Эластические волокна кожи бедра также подвергаются с возрастом значительным изменениям, более отчетливо выраженным в верхних отделах дермы. В коже подростков, по сравнению с кожей детей, отмечается увеличение общего количества эластических волокон, их огрубение (рис. 1, А). Некоторые волокна теряют отчетливость контуров, набухают и окрашиваются метакроматично, однако метакромазия после инкубации в гиалуронидазе сохраняется. Эластические волокна ШИК-положительны в обоих слоях дермы. В коже лиц из 3- и 4-й групп при окраске на эластик по Вейгерту в верхних отделах дермы, а также в волосяных фолликулах и вокруг желез выявляется большое количество фукселинофильноокрашенных волокон. В сосочковом слое отмечается их беспорядочное расположение, огрубение одних и истончение других; в верхних отделах дермы образуются клубки из спутанных волокон. Там же, а также вокруг волосяных фолликул и желез определяются глыбки неправильной формы с контурированными границами; нарастает число бледноокрашенных волокон с варикозными вздуттями, некоторые из них склеиваются между собой. Такие волокна метакроматичны при окраске толуидиновым синим и интенсивно фуксинофильны при реакции ШИК. С возрастом явления деструкции нарастают: волокна разбухают, утолщаются, склеиваются с образованием комков, часть волокон фрагментируется и распадается. В пожилом и старческом возрасте эти изменения распространяются на глублежащие отделы дер-

мы. Видоизмененная эластика и продукты ее распада окрашиваются метакроматично, что сохраняется после инкубации в гиалуронидазе.

Описанные возрастные изменения коллагеновых и эластических волокон ряд авторов [4—7] считает специфичными для кожи лица. Наши наблюдения показали, что коллагеновые и эластические волокна в ко-

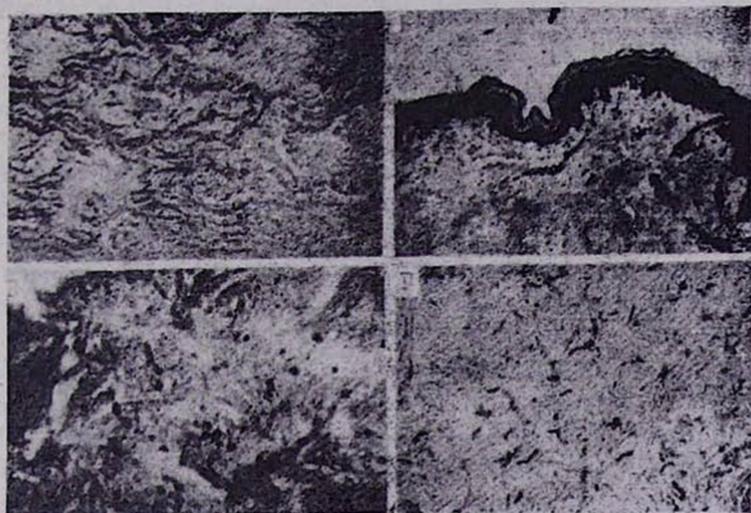


Рис. 1. А. Эластические волокна в сетчатом слое кожи бедра. Девочка 11 лет. Окраска на эластик по Вейгерту, $\times 400$. Б. Ослабление интенсивности фуксинофилии коллагеновых волокон, более выраженное в сосочковом слое, после обработки кожи коллагеназой. Мужчина 28 лет. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону, $\times 400$. В. Мелкие отверстия в коллагеновых пучках сетчатого слоя дермы после инкубации в трипсине. Мужчина 28 лет, окраска пикрофуксином, $\times 900$. Г. Зернистый распад эластических волокон в сетчатом слое дермы после обработки кожи эластазой. Мужчина 33 лет, окраска на эластик по Вейгерту, $\times 400$.

же бедра, «закрытой» части тела, с возрастом претерпевают такие же изменения, как и в коже лица, с той разницей, что они наступают несколько позднее и выражены менее интенсивно. Мы полностью разделяем мнение И. И. Подвысоцкой [8], что «старческие изменения кожи представляют единый процесс, и различие изменений в открытых и закрытых частях тела основано на количественных, а не на качественных показателях».

При гистоэнзиматическом анализе обнаружено, что коллагеновые волокна в коже детей и подростков под действием коллагеназы набухают со сглаживанием фибриллярности, гомогенизацией некоторых из них и ослаблением фуксинофилии при окраске пикрофуксином: в сосочковом слое они окрашиваются в розовый цвет; в сетчатом—волокна приобретают оранжевый оттенок, встречаются и пикринофильные пучки. В коже людей до 20 лет под действием трипсина отмечается войлокообразное разволокнение коллагеновых пучков в сосочковом слое, в волосяных сумках и в окружности желез. В сетчатом слое коллагеновые во-

локна сильно набухают, границы их становятся расплывчатыми, некоторые из них гомогенизируются и сливаются между собой. После инкубации в трипсине замечается усиление фуксифилии коллагеновых волокон, однако среди яркоокрашенных пучков встречаются оранжевые и пикринофильные. Пепсин в коже детей и подростков вызывает резкое набухание коллагеновых волокон, вплоть до расплавления, особенно выраженное в участках рыхло расположенной соединительной ткани. Набухшие коллагеновые волокна гомогенизируются и сливаются между собой с образованием аморфных полей. Пикрофуксинном коллагеновые пучки окрашиваются в коричневато-желтые тона, встречаются и пикринофильноокрашенные волокна.

В 3-й группе наблюдений протеолитические ферменты вызывают такие же по характеру, но менее выраженные по интенсивности изменения коллагеновых волокон, которые наиболее отчетливо выявляются в сосочковом слое (рис. 1, Б), в волосяных сумках и в окружности желез. В зрелом возрасте отмечается слабовыраженное набухание коллагеновых волокон под действием коллагеназы с ослаблением интенсивности фуксифилии при окраске пикрофуксинном. С возрастом повышается устойчивость коллагеновых волокон к коллагеназе, и к 50 г. в коже, обработанной коллагеназой, морфологические и тинкториальные изменения коллагеновых волокон не определяются. Возрастающую в онтогенезе резистентность коллагена к коллагеназе отмечает также ряд авторов [2, 10, 12, 13].

В коже людей до 35 лет под действием трипсина отмечается войлокообразное разволокнение пучков; в сетчатом слое волокна набухают и гомогенизируются. При окраске пикрофуксинном среди яркоокрашенных волокон встречаются и буровато-желтые пучки. При инкубации в пепсине кожи лиц среднего возраста замечается набухание и гомогенизация волокон с мозаичностью их окрашивания пикрофуксинном: среди яркоокрашенных волокон встречаются и оранжевые пучки, в сосочковом слое набухшие волокна окрашиваются от бледно- до темно-розового цвета. В пожилом и старческом возрасте коллагеновые волокна сетчатого слоя кожи сохраняют резистентность к коллагеназе; однако в сосочковом слое, волосяных сумках и в окружности желез отмечается набухание коллагеновых волокон с отчетливым ослаблением фуксифилии при окраске пикрофуксинном. Изменения коллагеновых волокон после инкубирования срезов в растворах трипсина и пепсина проявляются в слабом набухании коллагеновых волокон и незначительном ослаблении интенсивности их фуксифилии, главным образом в сосочковом слое и волосяных сумках.

При иммерсионной микроскопии срезов кожи, обработанных протеолитическими ферментами, в коллагеновых пучках дермы отчетливо видны мелкие отверстия (рис. 1, В). Этот феномен мы постоянно отмечали в наблюдениях 1-, 2-, 3-й групп, в меньшем числе случаев 4-й группы и в единичных наблюдениях 5- и 6-й групп.

Что же касается эластических волокон, то их чувствительность к эластазе с возрастом значительно повышается. В сетчатом слое кожи

детей и подростков после обработки эластазой часть волокон распадается с образованием зерен, глыбок, палочек, но в целом большинство волокон сохраняется. С возрастом распад эластических волокон под действием эластазы усиливается, в сетчатом слое определяются участки с массой эластолизатов (рис. 1, Г). В коже лиц среднего возраста после обработки эластазой появляются «голые» поля, лишенные эластических волокон. В пожилом и старческом возрасте эластические волокна дермы бесследно растворяются после обработки эластазой, и лишь в двух случаях (65 и 68 лет) отмечается наличие эластолизатов. Повышение с возрастом чувствительности эластических волокон к эластазе отмечают также другие авторы [11, 14].

Интересно отметить, что эластические волокна сосочкового слоя, волосяных сумок и в окружности желез бесследно исчезают после обработки эластазой кожи людей любого возраста.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что с возрастом значительно изменяются как морфология и гистохимические особенности волокнистых структур, так и чувствительность их к ферментам. Коллагеновые волокна в коже детей и подростков отличаются самой высокой в онтогенезе лабильностью и чувствительностью к протеолитическим ферментам, под действием которых в них наступают значительные изменения.

Гистоэнзиматический анализ показал, что коллагеновые и эластические волокна сосочкового слоя, волосяных сумок и в окружности желез в коже людей различного возраста более лабильны и сильнее изменяются под действием протеолитических ферментов, чем одноименные структуры сетчатого отдела дермы. В то время как эластические волокна сетчатого слоя в определенные возрастные периоды проявляют устойчивость по отношению к эластазе, в сосочковом слое, волосяных фолликулах и в окружности желез они бесследно лизируются ею в любом периоде онтогенеза. В пожилом и старческом возрасте при наличии резистентности к коллагеназе коллагеновых волокон в сетчатом слое отмечается повышение их чувствительности к указанному ферменту в сосочковом слое, волосяных сумках и в окружности желез.

Неодинаковая чувствительность к протеолитическим ферментам одноименных волокнистых образований в сосочковом и сетчатом слоях кожи свидетельствует о различном характере соединительной ткани в пределах одной и той же ткани [9]. Различие морфологических свойств и гистохимических особенностей волокнистых структур в сосочковом и сетчатом слоях дермы находит свое выражение в данных гистоэнзиматического анализа и подтверждается ими.

Значительно изменяющаяся в онтогенезе чувствительность волокнистых образований к протеолитическим ферментам рассматривается нами как один из важных критериев их возрастных изменений.

Տ. Դ. ՀՈՎՀԱՆՆՍՐԵԿՈՎԱ

ՄԱՐԿՈՒ ՄԱՇԿԻ ԹՆԼԱՎՈՐ ԳՈՅԱՅՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՀԱՍԱԿՅԻՆ
ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎԵՐՈՒԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ՀԻՍՏՈՒՆՋԻՄԱՏԻԿ
ԵՎ ՀԻՍՏՈՔԻՄԻԱԿԱՆ ՄԵԹՈԴՆԵՐԻ ՄԻՋՈՅՈՎ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել են մարդու մաշկի շարակցական հյուսվածքի թելավոր գոյացությունների տարիքային առանձնահատկությունները և նրանց զգայնությունը օնտոգենիզմի պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ (կոլագենազա, կլաստազա, պեպսին, տրիպսին): Պարզարանվել է, որ ամենազգայունը և փոփոխականը հրեխանների ու պատանիների մաշկի կոլագենային խրճիթն է:

Աստիճանաբար յաջ էլեմենտների զգայնությունը հանդեպ ֆերմենտների նվազում է և 50 տարեկանում նրանք ձևը են բերում կայունություն կոլագենազայի նկատմամբ: Մերունիների մոտ կոլագենազայի ազդեցությունը նորից վերականգնվում է: Առաձգական թելերի զգայնությունը էլաստազայի նկատմամբ տարիքին զուգահեռ աճում է: Մաշկի պտկաձև շերտի մազապարկի և շուրջ-գեղձային շրջանի կոլագեն ու առաձգական թելերը տարբեր տարիքում ավելի զգայուն և փոփոխական են դառնում պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ, քան դերմայի ցանցային շերտի նույնատիպ կառուցվածքները, որը վկայում է միևնույն օրգանում շարակցական հյուսվածքի տարբեր հատվածներում թելավոր գոյացությունների տարբեր բնույթի մասին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Баев А. А., Рязанцев Д. Е. В кн.: Механизмы склеротических процессов и рубцевания. Новосибирск, 1964.
2. Давыдовский И. В. Геронтология. М., 1966.
3. Жеребцов Л. Д. Архив патологии, 1960, 7, стр. 45.
4. Жеребцов Л. Д., Шубаева С. М. Вестник дерматологии и венерологии, 1961, 7, стр. 14.
5. Жеребцов Л. Д. Дисс. канд. М., 1962.
6. Ильина А. В. Вестник дерматологии и венерологии, 1938, 2, стр. 68.
7. Орловская Г. В. Архив патологии, 1949, 6, стр. 51.
8. Подвысоцкая И. И. Вестник дерматологии и венерологии, 1962, 11, стр. 15.
9. Пузык В. И. В кн.: Труды III научной конференции по возрастной морфологии, физиологии и биохимии. М., 1959, стр. 11.
10. Hall D. A., Reed R. Nature, 1957, 180, 243.
11. Hulth A. M., Goltz R. W. J. Invest. Dermatol., 1965, 44, 408.
12. Keech M., Yale. J Biol. and Med., 1954, 26, 4, 295.
13. Kohn R., Rollerson E. J. Gerontol., 1960, 15, 1, 10.
14. Mull J., Ram J. J. Gerontol., 1965, 20, 2, 201.